PROPOS LIMINAIRES SUR L'HUMIFICATION

F. MANGENOT

UNIVERSITÉ DE NANCY - 1
Laboratoire de Botanique et de Microbiologie
CENTRE DE 2ème CYCLE
CASE OFFICIELLE N° 140
54037 NANCY CEDEX - FRANCE

Le but de cet exposé est, en quelque sorte, d'ouvrir les débats qui se poursuivront jusqu'à Samedi en rappelant et en précisant un certain nombre de notions que certains connaissent bien -je m'en excuse auprès d'eux- que d'autres connaissent moins bien. Il serait bon que nous ayions tous une même plate forme de départ et il serait désirable que nous nous entendions, au moins pour quelques jours, sur le sens de certains termes.

Le titre de ce Colloque s'applique à un domaine immense qui pourrait s'étendre aux problèmes de pollution par les pesticides ou les huiles minérales comme à ceux de la pédogénèse. En réalité, dans l'esprit des organisateurs, ce Colloque avait un thème plus restreint : les relations entre les activités microbiennes de dégradation des débris organiques et la formation des humus.
Ces événements peuvent être envisagés à des points de vue différents par les pédologues, les agronomes, les écologistes ou les microbiologistes et notre thème initial s'est élargi. On doit s'en réjouir car l'intérêt d'une réunion comme celle-ci est de permettre la confrontation de ces points de vue. Il est d'ailleurs réconfortant de constater leur convergence : les représentants des différentes disciplines aboutissent, par des voies différentes, à des conclusions très semblables. Les données qu'ils apportent se complètent et se confirment mutuellement. C'est la preuve des progrès importants accomplis par nos connaissances sur l'humification au cours des dernières décades.

I. L'HUMIFICATION

Il me semble raisonnable de la définir car c'est un terme utilisé, suivant les auteurs, dans des sens un peu différents.
Etymologiquement l'humification c'est la formation de l'humus ; le tout est alors de s'entendre sur ce qu'est l'humus.
On peut dire que c'est la matière organique du sol, mais alors on inclut, sous ce terme des choses très diverses. KONONOVA (1966) distingue les débris organiques frais ou incomplètement décomposés de l'humus vrai. Or cette distinction est très difficile car l'humification est un phénomène progressif. Nous admettrons que l'humus vrai correspond à la matière organique intimement liée aux argiles, mais, entre celle-ci et l'humus libre,

séparable par flottation, existent des intermédiaires que l'on peut détacher des fractions minérales par agitation énergique ou par les ultrasons. Où s'arrête la matière organique fraîche et où commence l'humus vrai ? Néanmoins, il semble que, pour le pédologue, l'humification est la transformation de l'humus libre en humus lié.

Le tableau ci-dessous que j'emprunte à KONONOVA (1966) montre la répartition des matières organiques du sol :

DEBRIS ORGANIQUES FRAIS	HUMUS PROPREMENT DIT	
	a) SUBSTANCES HUMIQUES	b) PRODUITS D'ALTERATION PROFONDE DES DEBRIS ORGANIQUES, PRODUITS DE RESYNTHESE MICROBIENNE
	Acides fulviques hymatomélaniques humiques Humine	Protéines, glucides, cires, graisses, tanins, lignine et leurs produits d'altération

On y voit que l'humus au sens strict contient, d'une part des substances caractéristiques, les substances humiques et, d'autre part, des constituants que je qualifierais volontiers de banals en ce sens qu'ils entrent dans la composition des êtres vivants : ainsi les polysaccharides du sol peuvent être des mucigels ou des mucilages d'origine microbienne, c'est-à-dire des produits frais. Si on les inclut dans les substances humiques, on aboutit à des expressions troublantes comme le terme d'humine labile alors que l'humine est essentiellement une fraction très résistante.

Il importe de ne pas oublier que les substances humiques ne se définissent pas seulement par leurs caractères de solubilité ou par leur liaison avec les argiles. Ce sont des produits de teinte foncée, colloïdaux, doués d'une certaine résistance à la biodégradation et d'une plus ou moins forte capacité d'échange des bases. On admet généralement qu'ils comportent une fraction (ou nucléus) aromatique liée à des fractions différentes, protidiques ou polysaccharidiques. Elles résultent de l'oxydation de certains polyphénols en semi-quinones très réactives qui se condensent entre elles et avec d'autres molécules pour donner des hétéropolymères variés à l'infini tant par leurs propriétés physiques que par leur composition chimique.

Je m'excuse de revenir sur cette définition classique ; il fallait la rappeler car si nous désignons sous le nom de substances humiques les constituants banals de l'humus lié, nous ne saurons plus très bien de quoi nous parlons.

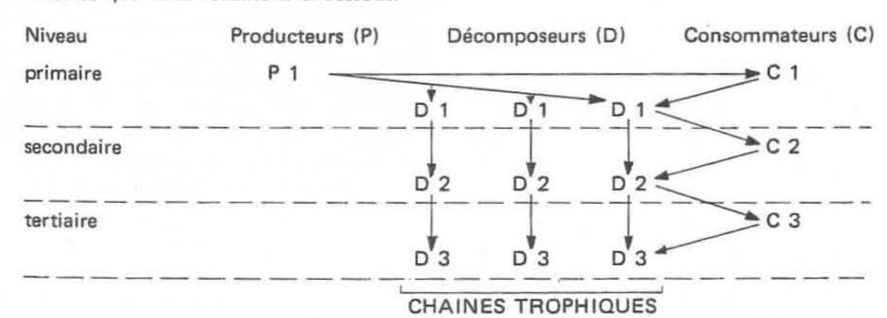
Il y a une deuxième raison de revenir sur cette définition. Une raison beaucoup plus importante que cette querelle de mots : il existe dans l'humus libre et chez les êtres vivants, au moins les végétaux, des substances analogues aux substances humiques à cette différence près qu'elles ne sont pas liées aux argiles et que leur composition élémentaire est plus variable. Mais elles présentent des caractéristiques physiques analogues (coloration, dimensions moléculaires). Elles sont résistantes à la biodégradation et ont le caractère de polyanions. Elles résultent également de la condensation oxydative de

polyphénols avec d'autres substances. Nous sommes donc en présence de deux sens du mot humification : pour le pédologue et l'écologiste, c'est un processus qui intervient dans le sol et conduit à l'humus lié dont les fractions sont définies plus par leur solubilité que par leur composition chimique. Pour le biochimiste, c'est un phénomène de polycondensation oxydative conduisant à des substances brunes présentes aussi bien dans l'humus lié que dans l'humus libre et même chez le vivant. Dans ces deux derniers cas, il vaut mieux les qualifier de préhumiques pour souligner qu'elles doivent être transformées avant de devenir de vraies substances humiques liées aux argiles. Dans la suite de cet exposé, et en attendant que des termes non ambigus aient été trouvés, j'utiliserai le mot humification au sens des biochimistes. C'est-à-dire que, en envisageant le fonctionnement de l'écosystème, nous passerons en revue les différents niveaux auxquels apparaissent des substances préhumiques ou humiques.

II. L'ECOSYSTEME

Nous nous adresserons, à titre d'exemple, à un écosystème forestier car ce sont les plus étudiés et probablement les moins modifiés par l'intervention humaine.

Je n'ai pas l'intention de reprendre ici la représentation classique d'un tel écosystème. Elle est trop connue, mais je veux souligner certains aspects auxquels elle accorde peu d'attention et qui, pour nous, sont essentiels.
L'arbre et le sous-étage (qu'il ne faut pas oublier, surtout les mousses dont l'importance est sans doute considérable ; cf. KILBERTUS 197[illegible] ne fournissent pas seulement au sol des débris organisés. Ils apportent aussi des exsudats foliaires ou racinaires qui ne sont pas négligeables. J'ai calculé, d'après les données de BRUCKERT et al. (1971), que dans une hêtraie de la région nancéienne les pluvio-lessivats apportaient environ 200 kg de matière organique par hectare pendant la période de végétation active. Ce chiffre est d'ailleurs en accord avec ce que nous savions déjà.
Il est un deuxième point qui nous intéresse tout spécialement car il concerne les décomposeurs. En fait, l'écosystème est un système à plusieurs niveaux. Le niveau primaire correspond aux schémas classiques et part des producteurs pour aboutir aux décomposeurs directement ou *via* les consommateurs phytophages. A chacun des niveaux suivants, les décomposeurs du niveau précédent jouent le rôle de producteurs : c'est la matière organique qu'ils ont synthétisée qui alimente des consommateurs microphytophages et de nouveaux décomposeurs. Puis ces derniers sont consommés et décomposés à leur tour. C'est ce que nous résumons ci-dessous.



Le flux énergétique s'écoule ainsi au long de chaînes trophiques en s'épuisant peu à peu par minéralisation tandis qu'apparaissent des substances humiques relativement stables, c'est-à-dire dont la décomposition est plus ou moins lente.

Hétérogénéité de l'écosystème : un débris, tel une feuille morte, est par essence hétérogène puisqu'il comprend des tissus différents (épiderme cutinisé, parenchymes, fibres). Ceci est encore plus vrai de la litière, formée de rameaux, de feuilles, d'inflorescences. Elle varie également suivant son origine ; je veux dire par là non seulement l'espèce végétale dont elle provient mais aussi le site. On sait que la composition des feuilles, notamment en ce qui concerne les constituants secondaires, varie suivant les sols. Dans une station ensoleillée et une formation ouverte, les photosynthates sont modifiés qualitativement, par exemple une lumière intense favorise la formation des anthocyanes. Il suffit de comparer, en automne, les myrtilles des Hautes Chaumes vosgiennes avec leurs feuilles violettes et les myrtilles de la forêt voisine dont les feuilles sont jaunes.
L'hétérogénéité de l'écosystème tient encore au passé des débris organiques ; je pense en particulier aux attaques parasitaires, provoquant des nécroses. Il est évident que la région nécrosée, précolonisée par le parasite, est différente des régions voisines saines. Il en va probablement de même dans le cas des parasites obligatoires (Mc KENZIE, ce Colloque). On sait d'ailleurs que, au voisinage des régions parasitées, par les Urédinales, la composition chimique des tissus subit de profondes modifications.

Ainsi quand une feuille morte, un fragment de paille ou un rameau atteint le sol, ce ne sont pas des microhabitats, mais des mosaïques de microhabitats, différents les uns des autres, et auxquels correspondent des populations différentes, dont les actions sont différentes.
Il en résulte que l'hétérogénéité initiale s'accroît au cours du temps, de sorte que l'analyse fine du système devient matériellement très difficile. L'usage des microscopes électroniques est alors précieux pour obtenir des images partielles extrêmement instructives. J'en donnerai comme exemple le travail récent de KILBERTUS et al. (1974) révélant dans les racines de luzerne des microbiocénoses remarquables. Je pense que ces études, en quelque sorte ponctuelles, sont appelées à nous fournir des renseignements d'une importance capitale. Elles permettront de compléter, de préciser et, sans doute, de corriger les données fournies par les méthodes classiques, c'est-à-dire globales portant, par exemple sur l'ensemble des litières d'une station ou sur la litière d'une espèce végétale donnée. Ces méthodes globales sont irremplaçables dans la pratique mais elles fournissent des données moyennes et grossières. Je les comparerais volontiers aux mesures de pH dans le sol qui fournissent une valeur moyenne alors que, sans doute, le pH varie d'un point à l'autre, permettant à des processus acidiphiles et neutrophiles de se dérouler simultanément.
Les différents niveaux que j'ai définis précédemment se succèdent au long des chaînes trophiques mais, en fait, coexistent de façon inextricable au sein de l'écosystème et, plus précisément au sein des habitats.
Nous allons examiner successivement les niveaux primaire et secondaire.

III. NIVEAU PRIMAIRE

Nous avons vu que les producteurs fournissaient au système des exsudats racinaires et foliaires ainsi que des organes : feuilles, fleurs, tiges, racines, fruits.

Les exsudats. La plupart des auteurs ont considéré seulement leurs constituants minéraux et y ont vu une restitution partielle au sol des éléments puisés par les racines. Cependant, comme l'ont montré BRUCKERT et al., dans le travail déjà cité, les pluvio-lessivats contiennent plus de matière organique que d'éléments minéraux et cette matière organique comprend des polymères colorés fournissant par hydrolyse des phénols et des acides aminés. Ce sont, en général, des produits à petites molécules mais, dans certains cas, on en rencontre dont le poids moléculaire atteint 8.000. Quelle est l'origine de ces polymères ? Nous n'en savons rien, mais il est raisonnable de penser qu'ils résultent d'oxydations intéressant les constituants des exsudats foliaires.

Il est en tout cas certain que les tissus végétaux contiennent normalement tous les constituants nécessaires à la synthèse de substances préhumiques : protides et composés aromatiques libres ou plus souvent à l'état combiné. Si on altère la semi-perméabilité cellulaire, par exemple en traitant les feuilles par le chloroforme, on obtient des extraits que nous avons qualifiés d'autolysats (MANGENOT et al., 1966) et qui brunissent spontanément à l'air, plus ou moins vite suivant les espèces. Très souvent, ils précipitent rapidement en laissant déposer des substances brunes ou noires offrant les caractères essentiels des substances humiques. Ces réactions se déroulent en présence de chloroforme qui interdit toute croissance microbienne ; elles consistent en oxydation de précurseurs aromatiques sous l'action d'oxydases d'origine végétale.
De son côté, L.N. ALEXANDROVA (1966) constatait que, lors de la décomposition des débris végétaux, riches en N organique, des composés humiques se formaient principalement à partir de substances facilement mobilisables.

Enfin les travaux de METCHE (CARBALLAS et al., 1971) ont apporté la preuve, grâce au ^{14}C que la phytomélanine de noyer, formée à partir de la juglone, au cours de la sénescence des feuilles, était une source de substances humiques et jouait un rôle primordial dans la détermination des caractères de l'humus de noyer.
Les constituants aromatiques hydrosolubles des végétaux supérieurs constituent donc, dans les débris frais, comme sans doute dans les pluvio-lessivats une première source de substances humiques comme le résume le tableau ci-dessous.

NIVEAU I
Formation de composés préhumiques ou humiques à partir de constituants hydrosolubles
- dans les exsudats foliaires ⟶ PLUVIO-LESSIVATS
- dans les débris végétaux frais ⟶ POLYMERES PREHUMIQUES VEGETAUX

ex. : *Juglans regia* ⟶ Juglone ⟶ humus de noyer (METCHE)

Ces phénomènes n'exigent pas une biodégradation préalable du matériel végétal, si ce n'est l'autolyse d'hétérosides ou de protéines ; ils ne réclament théoriquement pas l'intervention de microorganismes. Pourtant, dans les conditions naturelles, il est peu croyable que ces derniers soient absents, si ce n'est, peut-être, au cours de la sénescence d'une feuille saine.
Or la littérature cite un certain nombre de microorganismes synthétisant des pigments sombres en présence de composés aromatiques : l'exemple classique est celui d'*Azotobacter* en présence d'acide benzoïque. Mais la littérature ne cite pas moins de cas où les composés aromatiques sont oxydés par des oxygénases microbiennes en produits aliphatiques alimentant les processus respiratoires. On peut se demander lequel des deux phénomènes intervient dans les conditions naturelles. C'est une question qui a peu retenu l'attention, les auteurs se préoccupant plutôt soit de démontrer le caractère préhumique des produits bruns, soit de déterminer une chaîne catabolique. HAIDER et al., 1964 ont noté que, à petites doses répétées, les polyphénols sont dégradés alors que l'addition d'une seule dose massive provoque un brunissement.
Nous avons essayé de préciser ces indications (MANGENOT, 1971). Chez *Pseudomonas acidovorans,* le brunissement est un phénomène létal intervenant quand un organisme non adapté (les oxygénases sont inductibles) reçoit une dose forte de catéchol.
D'une manière plus générale, les populations de vitalité faible (C/N élevé, conditions suboptimales, ralentissant la croissance) succombent avec brunissement alors que des populations vigoureuses, en phase de croissance exponentielle rapide, bien alimentées en N s'adaptent et clivent la molécule de catéchol.
Or tout récemment, GRAY et al. (1974) estimaient à plus de 4 jours le temps de génération des bactéries dans les litières.
D'autre part, l'auto-oxydation des phénols végétaux est parfois très rapide et conduit à des produits très stables. Toutes les données disponibles concordent donc pour faire admettre que cette première voie prend une part certaine à l'humification.

Les débris organiques. Lorsqu'ils atteignent le sol, ils ont, en général, subi déjà de profondes transformations : perte de la chlorophylle, brunissement, pourriture dans le cas des bois. On peut penser que, à ce moment, ils sont essentiellement constitués de parois incrustées de substances brunes ou déjà partiellement dégradées.
Je ne m'étendrai pas sur ces transformations intervenant au cours de la sénescence et immédiatement après la mort. Elles sont incomplètement connues bien que leur importance soit sans doute considérable. Faut-il rappeler que l'on avait attribué la formation du mor à l'incrustation des parois cellulaires de callune par des complexes tanins-protéines protégeant la cellulose contre la biodégradation (HANDLEY, 1954). Ces idées, vieilles de vingt ans sont en parfait accord avec les données les plus récentes sur le rôle protecteur des complexes bruns vis-à-vis de la cellulose.
Nous y reviendrons plus loin.
Je ne m'étendrai pas non plus sur les phénomènes bien connus assurant la décomposition des glucides pariétaux : pectines, hemicelluloses, cellulose. On sait que, suivant les conceptions classiques, il existe une succession de stades spécialisés : d'abord des organismes qualifiés de glucophiles, caractérisés par leur croissance rapide, leur fécondité élevée, leurs équipements enzymatiques banals, utilisent les constituants les plus labiles.

Quand ces derniers s'épuisent, apparaîtraient les formes plus spécialisées, possédant des équipements enzymatiques particuliers qui les rendent aptes à décomposer les hémicelluloses ou la cellulose. De la même manière, leur succèderaient enfin les espèces dégradant la lignine. Je ne veux pas discuter ce tableau classique qui représente sans doute une simplification de phénomènes beaucoup plus complexes et plus variables. Il me suffira de dire que l'ordre des successions est suceptible de s'inverser et que la dégradation de la lignine est en concordance avec celle de la cellulose, comme nous le verrons dans un instant.
Les agents de biodégradation de la lignine sont imparfaitement connus. Ce ne sont peut-être pas seulement des organismes définis mais aussi des associations synergiques. D'autre part, dans la nature, la lignine est intimement liée à la charpente polysaccharidique par des liaisons covalentes. La biodégradation de la lignine native est donc différente de celle d'une lignine "pure" quelles que soient les précautions prises pour obtenir celles-ci.
Cette biodégradation s'accompagne toujours, dans les conditions normales, d'une destruction de la cellulose mais, suivant les cas, l'un ou l'autre des deux phénomènes est le plus rapide.
Dans la pourriture blanche produite par des Basidiomycètes ou des Ascomycètes, notamment Xylariacées, la lignine est décomposée aussi vite ou plus vite que les polysaccharides pariétaux. Dans la pourriture molle provoquée par certains Ascomycètes et Imparfaits qui s'y rattachent, ou plutôt, sans doute, par des associations incomplètement connues, la lignine est dégradée moins vite que la cellulose.

Dans la pourriture blanche, selon HAIDER et MARTIN (1968), les noyaux aromatiques sont d'abord minéralisés, puis les chaînes latérales, mais finalement apparaissent des substances aromatiques solubles. Selon MANSKAJA et KODINA (1969) ce sont des monomères et des dimères tels que l'aldéhyde coniférylique, l'acide férulique, la vanilline, la déshydrovanilline ou l'éther guaiacyl-glycérol-coniférylique. Puis ces produits sont dégradés progressivement jusqu'au stade acide protocatéchique ce qui permet l'ouverture éventuelle du cycle.
Les acides phénols solubles ayant la propriété de solubiliser les bases du sol, on pourrait être tenté d'établir une relation entre la pourriture blanche et les phénomènes de lessivage. Mais d'autre part les acides phénols libres sont d'autant plus facilement oxydés et polymérisés que les champignons des pourritures blanches sécrètent généralement des phénolases (Réaction de BAVENDAMM). Cependant le degré de polymérisation, *in vitro*, reste relativement faible ; on obtient des produits hydrosolubles ou des acides fulviques ou humiques bruns.
Dans la pourriture brune ou molle, la destruction de la charpente cellulosique libère la lignine, faisant ainsi apparaître des sites réactionnels sur la molécule. Ceci permet la formation de liaisons C-C supplémentaires entre les sous-unités aromatiques. Il en résulte une condensation de la lignine qui accroît l'aromaticité du produit. Des liaisons peuvent aussi s'établir avec des composés azotés pour donner des complexes lignine-protéines. En même temps apparaissent de petites quantités de monomères aromatiques. Ces mécanismes que j'emprunte à l'étude de MANSKAJA et KODINA (1969) rappellent, selon ces auteurs, les effets de l'hydrolyse à chaud de la lignine, fournissant de la vanilline et des structures condensées.

Ces produits d'altération de la lignine deviennent en grande partie solubles dans les bases et entrent ainsi dans la catégorie des acides humiques. En fait, nous ne savons pas si ces transformations se produisent de la même façon dans le sol.
MAYAUDON et BATISTIC (1970) montrent que de la lignine de KLASON est physiquement adsorbée sur les acides humiques de sorte que son incorporation à l'humus n'exigerait même pas sa modification préalable. Il est vrai que la lignine de KLASON est un artefact chimique.
Quoi qu'il en soit, la pourriture brune donne très peu de substances hydrosolubles et permet une humification directe de la lignine sans fractionnement notable.

Il est possible que, entre ces deux types fondamentaux, existent des intermédiaires. Je vous renvoie sur ce point au travail de HAIDER et DOMSCH (1969) décrivant l'aptitude de certains Ascomycètes ou Imparfaits (*Chaetomium, Sporormia, Stachybotrys)* à dégrader la lignine suivant des modalités rappelant celles de la pourriture blanche, bien que la cellulose soit décomposée plus vite que la lignine.
Il y a longtemps que l'on a pressenti l'importance pour la formation de l'humus du mode de dégradation de la lignine : FALCK en 1930 attribuait à la pourriture brune la formation d'humus brut et à la pourriture blanche celle des humus doux.
ROMMELL quelques années plus tard exprimait l'idée inverse en se fondant sur des raisonnements tout aussi convaincants. Pourtant, il y a dix ans seulement, certains auteurs se demandaient encore si la pourriture blanche avait une importance réelle dans les sols.
En fait, il n'y a pas une réponse unique à cette question. Il y a des sols où elle tient une place réduite, il y en a d'autres où elle est prépondérante et ceci aussi bien dans les régions tempérées qu'en Afrique tropicale.
A Nancy, nous nous sommes intéressés aux sols forestiers en utilisant une méthode de piégeage basée sur ce principe que "le seul critère d'une activité lignivore est la perte de lignine dans un substrat naturel" (HAIDER et al., 1964). Les pièges, composés de bois ou de sciure sont mis en contact avec le sol lui-même, *in situ* ou *in vitro,* à raison de 10 ou 20 répétitions par sol et par horizon. Après une incubation de 18 mois, on détermine les pertes de poids et de lignine.
J'ai réuni dans le tableau de la page suivante les données obtenues *in situ* dans quelques sols représentant les types suivants : rendzine, sols bruns forestiers, sols podzoliques. Les résultats en chiffres gras correspondent à des échantillons pour lesquels la perte de lignine est élevée par rapport à la perte de poids (perte de lignine / perte de poids $\geqslant 0,6$). Il s'agit là d'une valeur critique à partir de laquelle on peut considérer que la pourriture blanche intervient.
On voit dans ce tableau que, dans la rendzine méditerranéenne, les échantillons atteints de pourriture blanche sont peu nombreux alors que les pertes de poids sont importantes. La population assure une cellulolyse active comme l'ont prouvé d'autres études : nous sommes en présence d'une pourriture brune.

La rendzine, sous le climat lorrain est étonnamment inactive dans les essais *in situ* alors que les résultats obtenus *in vitro* et qui ne figurent pas ici permettraient de la rapprocher des sols bruns lessivés voisins.

DECOMPOSITION DE LA SCIURE DE HETRE DANS LES SOLS FORESTIERS

Pertes de lignine en % de la lignine initiale

Niveau	0–10	10–20	20–30	30–40	40–50	50–60	60–70	70–80	80–90
Rendzine méditerranéenne. Chêne vert. pH 7,1									
0/5		16 15/46	33 26/56	33 34/67	16 43/70				
15/20		16 12/33	33 27/54	33 34/66	16 **46/61**				
Rendzine forestière sur collivium. Hêtre, Charme. pH 7,0									
0/5	100 5/24								
15/20	100 1/13								
Sol brun lessivé à mull sur calcaire. Chêne, hêtre, charme. pH 5,6									
0/5	33 0/19	33 15/32	17 22/53	17 **33/59**					
15/20	66 2/24	17 11/44		17 **30/51**					
Sol brun lessivé à terra fusca. Hêtre, charme. pH 5,2									
0/5	50 5/9	17 12/23					17 **69/70**	16 **70/77**	
15/20	83 1/3							17 **71/75**	
Sol brun lessivé à terra fusca. Epicéa. pH 4,3									
0/5	33 0/11	17 16/43					33 **64/70**	17 **71/55**	
15/20	33 0/10	17 17/33	33 **24/36**				17 **66/76**		
Sol podzolique à pseudogley. Chêne. pH 3,8									
0/5	83 0/5						17 **66/55**		
15/20	100 1/5								
Podzol humo-ferrugineux. Ancienne pinède. pH 3,4									
0/5	100 0/7								
15/20	83 0/4						17 **66/59**		
Podzol humo-ferrugineux. Hêtre. pH 3,5									
0/5	83 0/6							17 **75/45**	
15/20	50 0/6	33 **13/17**							17 **80/52**
Sol brun acide à mull. Hêtre. pH 4,5									
0/5					17 **47/32**		33 **65/39**	50 **74/70**	
15/20	33 **5/9**				17 **45/14'**	17 **58/61**		17 **70/75**	16 **83/86**

Légende : dans chaque colonne, le premier représente le nombre d'échantillons dans la classe en % du nombre total. Les 2 chiffres suivants (p. ex. 5/24) représentent les pertes moyenne de lignine et de poids.

Ces derniers sont moins pauvres en pourritures blanches et il arrive que celles-ci soient majoritaires, du moins *in vitro.* Mais les échantillons qui n'en présentent pas sont peu actifs avec des pertes de poids dépassant rarement 20 % en 18 mois. Il faut noter que cette tendance à la division des populations d'échantillons en deux familles - l'une active et lignivore, l'autre peu efficace et sans pourriture blanche - s'accentue après enrésinement.
Cette même tendance est encore beaucoup plus marquée dans les podzols. En l'absence de pourritures blanches, les pertes de poids atteignent rarement 10 %. Comme les pourritures blanches sont peu nombreuses, la matière organique tend à s'accumuler sous forme d'humus brut. D'autre part, les polyphénols produits par la végétation sont peu métabolisés puisque la microflore est pauvre et les conditions peu favorables à leur oxydation.
Au contraire dans la rendzine, la prédominance des pourritures brunes devrait conduire à l'accumulation de complexes très condensés.
Pourtant on peut voir à la dernière ligne de ce tableau que la formation du mull peut reposer, dans certains sols sur une très forte activité ligninolytique. Le Dr TOUTAIN nous en parlera plus en détail dans ce Colloque.
Il me reste à parler du deuxième niveau celui des décomposeurs décomposés.

IV. NIVEAU II

Comme nous l'avons vu, tout débris végétal est une mosaïque de microhabitats envahis à différents instants par des microorganismes pionniers qui s'y développent pendant un certain temps. Il semble que, le plus souvent, ce soient des champignons.

Puis leur activité semble s'arrêter sans que l'on sache très bien pourquoi. On considère généralement que ceci correspond à l'épuisement d'un substrat essentiel mais, *in vitro*, un *Cellvibrio* par exemple ne consomme qu'une partie de la cellulose qui lui est fournie. On pourrait donc tout aussi bien penser à une répression catabolique comme celle de la cellulase par le glucose ou le pyruvate. Ou bien il pourrait s'agir d'une intoxication du milieu peut-être par des métabolites aussi simples que l'ammoniac ou encore de phénomènes d'antibiose. C'est que, à la suite du champignon, les bactéries pénètrent et prolifèrent. Le microhabitat initial n'est plus une niche, mais un système d'au moins deux niches : les vestiges du substrat initial et l'organisme pionnier fournissant à son cortège bactérien les sous-produits de son activité, par exemple des sucres libérés par l'action de ses hydrolases ou bien même des exsudats et l'on a défini une mycosphère entourant les organes des champignons (hyphes, carpophores) et comparable à la rhizosphère. Après une période d'inactivité plus ou moins longue correspondant à une phase de mycostase, le pionnier entre en sénescence et succombe.

Les décomposeurs sont évidemment les principaux responsables de l'humification. Nous avons déjà envisagé leur rôle dans les synthèses d'humus à partir de polyphénols d'origine végétale.
Il faut aussi considérer de véritables substances préhumiques microbiennes édifiées non

pas à partir de précurseurs aromatiques exogènes, mais à partir de substrats tels que les glucides, en particulier la cellulose. Cela veut dire que des phénomènes anaboliques microbiens conduisent à la synthèse de composés aromatiques originaux susceptibles de se condenser entre eux et avec des protides pour donner des complexes de type humique. Il semble que ces phénomènes se rencontrent chez les actimomycètes et surtout les champignons.
Le rôle des pigments fongiques dans les synthèses humiques a été pressenti il y a bien longtemps par P.E. MULLER en 1887 et BEIJERINCK en 1904 pensait que les fractions azotées résistantes présentes dans l'humus correspondaient à des vestiges de mycélium.
Plus récemment, G. MULLER et KLEINHEMPEL (1966) classaient les champignons étudiés par eux en deux groupes : ceux qui produisent des pigments sombres et sont humifiants et les espèces achromogènes et non humifiantes.
Je passerai rapidement sur les nombreux travaux décrivant la production de substances colorées dans les cultures pures fongiques au cours de leur croissance et de leur autolyse. Il semble qu'il s'agisse alors, au moins dans certains cas, de pigments diffusibles et capables de constituer le nucléus de complexes préhumiques, par exemple la rubacine de *Cephalosporium gordoni* participerait à la formation des acides humiques de ce champignon (AURICH et al., 1968).
Ces pigments sont aussi des polymères noirs que l'on appelle, sans doute de façon incorrecte, des mélanines. Ils sont en partie extractibles par la soude et MULLER et al. (1969) ont montré leurs similitudes avec les acides humiques gris.

L'origine de ces mélanines est mal connue et peut-être différente suivant les espèces. La première idée qui vienne à l'esprit est qu'elles résultent de l'oxydation enzymatique de précurseurs, aromatiques (LJAKH et RUBAN, 1968).

Il faut se rappeler que les composés aromatiques des champignons sont, en partie, différents de ceux des végétaux supérieurs ou des animaux. Les pigments ont souvent une structure polycyclique. D'autre part, je vous renvoie aux travaux récents de MARTIN et HAIDER (1969), HAIDER et MARTIN (1970), MARTIN et al. (1972).
J'en retiendrai surtout la présence de composés trihydroxylés, capables de s'auto-oxyder en donnant des hétéropolymères avec des peptides ou des protéines. Ils sont plus abondants chez les champignons fuligineux que chez un *Aspergillus* et l'on serait tenté d'établir une relation entre leur présence et celle des mélanines. Quoi qu'il en soit, ces mélanines ont une importance écologique considérable.
On peut reconnaître trois régions dans la paroi d'une hyphe d'*Helminthosporium.*
Tout à fait à l'extérieur, une couche A, très fine, très noire et verruqueuse.
C'est probablement une couche mucilagineuse, déshydratée et devenue pour cette raison hydrophobe, incrustée de granules mélaniques si nombreux qu'ils ne peuvent être distingués les uns des autres. En milieu aqueux, cette couche A est, au contraire gonflée et diffuse probablement en libérant les granules. On peut la considérer comme l'homologue de la capsule des bactéries ou de la "vagina" des algues. Au-dessous de celle-ci, existe la paroi proprement dite, avec ses microfibrilles de chitine.
Elle est beaucoup plus épaisse et on peut y distinguer une zone interne fibrillaire et

hyaline et une zone externe chargée de granules mélaniques. REISINGER désigne cet ensemble sous le nom de couche B, l'importance de la zone mélanisée augmentant avec l'âge de la cellule. Tout se passe comme si des précurseurs oxydables étaient exportés à travers la paroi et s'oxydaient là où le potentiel oxydant du milieu extérieur l'emportait sur le potentiel réducteur du milieu interne. C'est ce que nous résumons dans le schéma suivant :

SCHEMA DE LA PAROI FONGIQUE MELANISEE (D'après REISINGER, 1972)

O_2 (Milieu extérieur)

COUCHE A = mucilage déshydraté + mélanine	MELANISEE
COUCHE B = paroi proprement dite Structure fondamentale microfibrillaire masquée par des granules mélaniques	MELANISEE
non masquée	NON MELANISEE

précurseurs réduits

(Milieu intérieur)

Quand une hyphe hyaline est soumise à des conditions défavorables, agressions bactériennes, sénescence, il arrive que sa paroi se mélanise : il se forme des chlamydospores ou des hyphes fossiles mortes et à parois brunes dont nous savons peu de choses.

La mélanisation protège les parois contre la biodégradation, comme l'ont montré ALEXANDER et ses collaborateurs (KUO et A., BLOOMFIELD et A., 1967). C'est l'expression d'un phénomène très général auquel nous avons déjà fait allusion : les complexes bruns sont capables de réagir avec les protéines enzymatiques pour les tanner en quelque sorte. Le produit de brunissement des pommes pourries inhibe les pectinases du parasite, le sphagnol des mousses inhibe les cellulases (KILBERTUS 1970), la mélanine fongique inhibe les chitinases et les glucane-hydrolases.

La mélanisation des mycéliums est une des raisons de l'inertie des humus bruts ; ce qui s'oppose à la stabilisation des mycéliums favorise une évolution dynamique de l'humus. Je ne veux pas me laisser entraîner à discuter une fois de plus des facteurs commandant l'apparition du mull et du mor. Nous ne résoudrons pas plus le problème aujourd'hui qu'on ne l'a fait hier.

Je reviens donc à l'hyphe mélanisée d'*Helminthosporium*. La protection par les mélanines n'est pas totale, des bactéries peuvent pénétrer en certains points semble-t-il (OLD, 1969). REISINGER et KILBERTUS (1973) ont vu des bactéries se fixer au niveau des échinulations et provoquer l'altération à distance de la charpente fondamentale des parois puis leur perforation.

Ceci nous conduit à parler du rôle des consommateurs microphytophages. Dans les

Landes de Gascogne, certains sols sableux, surtout ceux des parcelles cultivées, renferment une poudre noire, légère, qui remonte à la surface si l'on agite le sable. L'examen microscopique montre qu'elle est formée de pelotes fécales composées de fragments fongiques agglomérés. Sur ces sols, les débris de culture, en particulier de maïs, sont recouverts d'un enduit noir de champignons fuligineux superficiels. Il est probable que des animaux - le sol contient un bon nombre d'Acariens - viennent se nourrir de ces champignons, en digèrent plus ou moins le contenu, mais les déjections n'évoluent pas ensuite, peut-être parce que le sol est très pauvre et le drainage important.
Quand REISINGER nourrit *in vitro* ses *Tyrophagus* sur *Helminthosporium*, les bactéries présentes dans les déjections sont capables de se développer : l'animal casse les hyphes ou les spores et permet ainsi aux bactéries de gagner immédiatement la zone profonde non mélanisée et labile de la couche B. L'animal accélère ainsi la biodégradation du mycélium. De plus il nettoie, en quelque sorte la niche du champignon qui l'occupait et il la rend disponible pour d'autres organismes mieux adaptés aux nouvelles conditions du milieu.
Enfin la décomposition des parois hyphales libère les granules de mélanine ou même les fragmente en microgranules qui peuvent être incorporés aux substances humiques.

On voit que le fonctionnement équilibré des processus de biodégradation et d'humification exige le fonctionnement équilibré, lui aussi, des chaînes trophiques que j'ai essayé de vous décrire. Si un facteur vient empêcher ce fonctionnement ne serait-ce qu'en un point, le système est bloqué.
On voit d'autre part que, à chaque étape des chaînes trophiques, une partie de la matière organique est mise en réserve sous forme de substances humiques : synthèses à partir des producteurs, directement ou sous l'effet des décomposeurs, probablement aussi au cours du transit digestif chez les consommateurs. Le même tableau se retrouve aux niveaux secondaire, tertiaire, etc. Aussi ce que nous appelons substances humiques est-il un ensemble hétéroclite de déchets divers et cependant soigneusement triés par la nature. Le critère du tri paraît être la présence d'un nucléus aromatique stabilisateur, mais celui-ci est lié à une infinie diversité de composants (polysaccharides, protides, etc.) parfois plus abondants que lui-même mais dont il freine la biodégradation.

V. BIBLIOGRAPHIE

ALEXANDROVA L. N. (1966) – En russe : sur le mécanisme de formation des substances humiques et les processus de leur formation dans le sol. Zap. leningr. sel'khoz. Inst. **105.** 3-18

AURICH H., MUCKE D., OBENAUS R. (1963) – Zur Biochemie der Huminsäuren. II. Die Aminosäuren der wasserunlöslichen und wasserlöslichen Huminsäuren aus *Cephalosporium gordoni.* Acta biol. med. germ. **11.** 311-322

BLOOMFIELD B.J., ALEXANDER M. (1967) – Melanins and resistance of fungi to lysis. J. Bacteriol. **94.** 624-629.

BRUCKERT S., TOUTAIN F., TCHIKAYA J., JACQUIN F. (1971) – Influence des pluvio-lessivats de hêtre et de pin sylvestre sur les processus d'humification. Oecol. Plant. **6.** 329-339

CARBALLAS T., ANDREUX F., METCHE M. (1971) – Influence directrice de certains constituants de la litière sur l'élaboration et les propriétés de la matière organique d'un sol brun calcaire. Bull. Ec. nat. sup. agron. Nancy. **13.** 245-261

GRAY T.R.G., HISSETT R., DUXBURY T. (1974) – Bacterial populations of litter and soilin a deciduous woodland. II. Numbers, biomass, and growth rates. Bull. Ecol. Biol. Sol. **11.** 15-26

HAIDER K., DOMSCH K. (1969) – Abbau und Umsetzung von lignifiziertem Pflanzenmaterial durch mikroskopischen Bodenpilze. Arch. Mikrobiol. **64.** 338-348

HAIDER K., LIM S., FLAIG W. (1964) – Experimente und Theorien über den Ligninabbau bei der Weissfäule des Holzes und bei der Verrottung pflanzlicher Substanz in Boden. Holzforschung. **18.** 81-88

HAIDER K., MARTIN J.P. (1968) – The role of micro-organisms in the formation of humic acids. Isotopes and Radiation in Soil organic Matter Studies. Intern. atom. Energ. Agency. 189-196

HAIDER K., MARTIN J.P. (1970) – Humic acid-type phenolic polymers from *Aspergillus sydowii* culture medium, *Stachybotrys* spp. cells and autoxidized phenol mixtures. Soil Biol. Biochem. **2.** 145-146

HANDLEY W.R.G. (1954) – Mull and mor formation in relation to forest soils. For.Comm. Bull. n° **23.** 115 pp.

KILBERTUS G. (1970) – Etude écologique de la strate muscinale dans une pinède sur calcaire lusitanien en Lorraine. Thèse Univ. Nancy.

KILBERTUS G., REISINGER O., DELON R. (1974) – Biodégradation et humification. II. Activité de microbiocénoses dans les racines de luzerne. Etude électronique. Rev. Ecol. Biol. Sol. **11.** 27-46

KONONOVA M.M. (1966) – Die Mikroorganismen und der Prozess der Humusbildung. Tag Ber. n° 82 Dtsche Akad. Landw. Wissensch. Berlin. 307-315

KUO M.J., ALEXANDER M. (1967) – Inhibition of the lysis of fungi by melanins. J. Bacteriol. **94.** 624-629

LJAKH S.P., RUBAN E.L. (1968) – En russe : Mélanogénèse et activité tyrosinase chez les microorganismes. Usp. Mikrobiol. **5.** 90-120

MANGENOT F. (1971) – On the oxidation of phenolics by bacteria, and synthesis of parahumic substances. Stud. about Humus. Humus et Planta. **5.** 37-42

MANGENOT F., JACQUIN F., METCHE M. (1966) – A propos des interactions plante-sol. I. Les exsudats foliaires peuvent-ils être une source de substances humiques ? Oecol. Plant. **1.** 79-101

MANSKAJA S.M., KODINA L.A. (1969) – Aromatic structures of lignins and their role in the formation of humic acids. Soviet Soil Sci. **1969** n°8. 1102-1107

MARTIN J.P., HAIDER K (1969) – Phenolic polymers of *Stachybotrys atra, Stachybotrys chartarum* and *Epicoccum nigrum* in relation to humic acid formation. Soil Science. **107.** 260-270.

MARTIN J.P., HAIDER K., WOLF D. (1972) – Synthesis of phenols and phenolic polymers by *Hendersonula toruloidea* in relation to humic acid formation. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **36.** 311-315

MAYAUDON J., BATISTIC L. – Dégradation biologique de la lignine ^{14}C dans le sol. Ann. Inst. Pasteur. **118.** 191-198

MULLER G., KLEINHEMPEL D. (1966) – Über biologisch gesteuerte Abbauvorgänge im Boden. IV. Zbl. Bakt. ParasitKde. Infekt.-Krankh. Hygiene. II. **117.** 245-254

MULLER G., KLEINHEMPEL D., KLEIN W. (1969) – Über das Verhalten von Pilzhuminsäuren im Boden. Zbl. Bakt. ParasitKde. Infekt. Krankh. Hygiene. II. **123.** 677-682

OLD K.M. (1973) – Perforation of conidia of *Cochliobolus sations* in natural soils. Trans. brit. mycol. Soc. **53.** 207-26

REISINGER O. (1972) – Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques Hyphomycètes à parois mélanisées. Thèse Univ. Nancy I.

REISINGER O., KILBERTUS G. (1973) – Biodégradation et humification. III. Libération des granules. Modèle expérimental en présence de bactéries. Conclusions générales. Soil Biol. Biochem. **5.** 187-192